Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 5, Dec- Jan 2021, p. 889-903

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۰، ص. ۹۰۳-۸۸۹

مقاله پژوهشی

بررسی اثر ترکیبی پودر کاهو(*Lactuca sativa*) و رازیانه (*Foeniculum vulgare*) به‌عنوان منبع طبیعی نیترت بر ویژگی‌های سوسیس بسته‌بندی شده تحت خلأ

زهرا یوسفی مجیر[1]- علیرضا رحمن[2]*- مریم اوتادی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۰۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۱

چکیده

با توجه به مخاطرات مصرف نگهدارنده‌های سنتزی مثل نیتریت و املاح آن در فرآورده‌های گوشتی تلاش‌های برای کاهش این ماده در این محصولات انجام شده است. از این رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی جایگزینی بخشی از نیتریت در فرمولاسیون سوسیس ۵۵ درصد بر اساس فرمول متداول یک واحد تولیدی انجام شد. برای این منظور، نمونه‌ها با ۱۲۰ ppm نیتریت و ترکیبی از پودر کاهو و رازیانه در قالب چهار تیمار شامل: T1 (۹۰ ppm نیتریت +۳۰ ppm پودر کاهو و رازیانه)، T2 (۶۰ ppm نیتریت +۶۰ ppm پودر کاهو و رازیانه)، T3 (۳۰ ppm نیتریت +۹۰ ppm پودر کاهو و رازیانه) و T4 (۱۲۰ ppm پودر کاهو و رازیانه) و نمونه شاهد با ۱۲۰ ppm نیتریت (بدون پودر کاهو و رازیانه) تولید شدند. ویژگی‌های فیزیکو شیمایی، میکروبی و حسی نمونه‌های تولیدی طی ۳۰ روز نگهداری در دمای یخچالی بررسی شد. نتایج نشان داد که کمترین میزان pH (۵/۲۷) در تیمار T1 در روز ۳۰ مشاهده شد ($p<0.05$). کمترین میزان رطوبت (۵۶/۵۲ درصد) و خاکستر (۲/۴۳ درصد) مربوط به تیمار شاهد در روز ۳۰ بود ($p<0.05$). اعمال سطوح ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ppm پودرکاهو و رازیانه در تیمارها به‌ترتیب کاهش ۱۷، ۱۸، ۱۶ و ۲۴ درصد را در محتوی نیترات نمونه‌ها را نشان داد ($p<0.05$). بیشترین و کمترین میزان عدد پراکسید به‌ترتیب با مقادیر ۱/۱۵ meq O_2/Kg مربوط به نمونه شاهد در روز ۳۰ و ۰/۳ meq O_2/Kg مربوط به نمونه T4 در روز اول بود. در مورد شاخص تیوباربیتوریک اسید نیز به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان مربوط به نمونه شاهد با مقدار ۲۴ mg Malone Aldehyde /Kg در روز ۲۰ و ۱۵/۷۶ mg Malone Aldehyde /Kg مربوط به نمونه T4 در روز ۳۰ بود ($p<0.05$). میزان رشد باکتری‌ها در تیمارهای حاوی پودر کاهو و رازیانه و نیتریت کمتر بود ولی به‌طورکلی روند افزایشی در میزان بار میکروبی در تمامی تیمارها طی ۳۰ روز نگهداری مشاهده شد ($p<0.05$)، درحالی‌که در طی ۳۰ روز *کلستریدیوم پرفرینجنس*، *کلی‌فرم*، کپک و مخمر رشد نکرد ($P>0.05$). در ارزیابی رنگ‌سنجی تیمارها، کمترین اندیس قرمزی (a*) در تیمار T4 مشاهده شد. بیشترین و کمترین اندیس زردی (b*) به‌ترتیب مربوط به تیمار T_1 و T_4 و متغییرهای مورد بررسی تأثیری بر پارامتر درخشندگی (L*) نشان ندادند. نتایج ارزیابی حسی عدم تأثیر افزودن پودرکاهو و رازیانه به میزان ۶۰ ppm پودر بر طعم و بوی تیمارها و کاهش امتیاز عطر و بو در تیمارها را با افزایش پودرکاهو و رازیانه نشان داد. نتایج این پژوهش امکان جایگزینی موفق بخشی از نیتریت (حداقل ppm ۶۰) را با پودر ترکیبی کاهو و رازیانه را نشان داد.

واژه‌های کلیدی: پودر کاهو، پودر رازیانه، سوسیس، نیتریت

مقدمه

نیترات و نیتریت عملکردهای مهمی در تولید محصولاتی گوشتی دارند، این مواد به‌عنوان ماده افزودنی (عمل‌آوری نمکی[3]) به‌منظور حفظ قرمزی گوشت و فعالیت ضدمیکروبی آن‌ها در برابر انواع باکتری‌ها به‌ویژه *کلستریدیوم بوتولینیوم* و تولید سموم آن استفاده می‌شود؛ باید توجه داشت افزودن آن‌ها به دلیل خطرات سلامتی برای انسان و محیط زیست در دوزهای بالا بسیار محدود است (Perea-Sanz *et al.*, 2019). همچنین، تولید نیتروزآمین‌ها در محصولات گوشتی با واکنش بین عوامل نیتروژن‌کننده، مشتق شده از نیتریت و آمین‌های ثانویه، حاصل از تخریب پروتئین و لیپیدها، به دلیل ماهیت سرطان‌زایی نگرانی‌های را ایجاد کرده است؛ بنابراین، ارائه فرآورده‌های گوشتی سالم‌تر از لحاظ میزان افزودنی‌های مثل نیترات و نیتریت مورد تقاضای مصرف کننده است (Perea-Sanz *et al.*, 2018) و در نتیجه پژوهش‌هایی بر جایگزینی نیترات و نیتریت با استفاده از میوه‌ها و ادویه‌ها متمرکز شده است. سبزیجات به‌طور طبیعی به دلیل دارا بودن ترکیبات مغذی مانند بتاکاروتن، ویتامین‌ها (از جمله ویتامین‌های A و

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی‌ارشد و استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳- دانشیار، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران مرکزی، تهران، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: alireza_rahman@yahoo.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v17i5.86477
3 Curing Salt

E) و آنتی‌اکسیدان‌ها در پیشگیری از بسیاری از سرطان‌ها موثر هستند، علاوه بر این مطالعات نشان داده محدوده گسترده از نیترات در سبزیجات وجود دارد یعنی حدود ۸۰ درصد از نیترات موجود در رژیم غذایی از منبع سبزیجات، میوه‌ها تامین می‌شود. در میان سبزیجات کرفس، کاهو، چغندر و اسفناج میزان بالایی نیترات دارند (Hord *et al*., 2017; Gassara *et al*., 2016). از طرفی برای تقویت اثر نیترات در فرمولاسیون از ترکیبات احیاءکننده مختلف (مانند آسکوربات سدیم و اریتروبات سدیم) در فرآورده‌های گوشتی استفاده می‌شود (خالقی و همکاران، ۱۳۹۱). مطالعات متعدد داخل و خارج کشور استفاده جایگزینی موفق ادویه و سبزیجات را با نیترات در فرآورده‌های گوشتی را نشان داده است. ملکی کهکی و همکاران (۱۳۹۶) نشان دادند جایگزینی نیترات با ۶۰ درصد عصاره کرفس از نظر شاخص قرمزی مطلوب‌ترین نمونه بود و از لحاظ طعم تفاوت معناداری با نمونه شاهد نداشت.Ozaki وهمکاران (۲۰۲۰) نشان دادند افزودن ۱درصد پودر عصاره تربچه اکسایش لیپیدها را در سوسیس تخمیری کاهش داد و جایگزین مناسبی برای نیتریت در این محصولات بود. همچنین Hwang و همکاران (۲۰۱۸)، نشان دادند پودر عصاره سبزیجات (اسفناج، کاهو، چغندر و کرفس) پتانسیل استفاده به‌عنوان جایگزین طبیعی نیتریت در سویس پخته را دارند. با توجه به تأیید سازمان غذا و دارو آمریکا در رابطه با تولید محصولات حاوی نیترات و نیتریت طبیعی، هدف از این پژوهش امکان حذف نیتریت در فرمولاسیون سوسیس‌های بسته‌بندی تحت خلاء با استفاده از پودر کاهو و رازیانه است.

مواد و روش‌ها

کاهو از مزرعه پژوهشکده دانشکده کشاورزی کرج، دانه‌های رازیانه از پژوهشکده گیاهان دارویی همدان، نشاسته ذرت (گلوکز، ایران)، روغن مایع آفتاب‌گردان (نازگل، ایران)، شیر خشک (مانا، ایران)، نیتریت (BFS، آلمان) و مواد لازم برای آزمایش‌ها از شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

تهیه پودر کاهو و رازیانه

بعد از تهیه و شستشو و ضدعفونی کردن برگ‌های کاهو در آون (شیماز، ایران) با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۲ ساعت خشک، توسط آسیاب برقی (IKA، آلمان) پودر شدند. دانه‌های رازیانه نیز بعد از جداسازی ناخالص‌ها توسط آسیاب برقی پودر شدند (Riyad *et al*., 2018).

تهیه سوسیس‌های کوکتل

فرمول سوسیس‌های تولیدی بر اساس فرمولاسیون ارائه شده توسط کارخانه فرآورده‌های گوشتی پاک تلیسه (۲۰۲) انجام شد. به‌منظور تهیه کوکتل‌ها، ابتدا گوشت با ۱/۳ یخ فرمولاسیون درون دستگاه مینی‌کاتر (Laska، اتریشی) با دمای صفر درجه سانتی‌گراد ریخته، خُرد و مخلوط شدند (۶ min با دور ۱۵۰۰ rpm شروع و ۳۰۰۰ خاتمه)؛ سپس نیتریت و پودرکاهو و رازیانه مطابق با جدول ۱ به آن اضافه شدند، بعد از آن مابقی مواد اولیه به مخلوط حاصل افزوده و کاملاً مخلوط شدند. پس از چند دقیقه کاتریزاسیون روغن، مواد پرکننده و مابقی یخ به کاتر افزوده و به مدت ۴ تا ۵ دقیقه کاتریزاسیون ادامه یافت. بلافاصله بعد از اتمام کاتریزاسیون خمیر ترکیبی هموژن شده درون پوشش‌های پلی‌آمیدی ۵ لایه نفوذناپذیر نسبت به آب و با استفاده از دستگاه فیلر (Talsa، اسپانیا) پُر شد. بعد از پُر کردن، کوکتل‌ها با بخاردر دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت (تا رسیدن دمای مرکز کوکتل‌ها به °C ۷۲)، حرارت داده شدند. سپس با دوش آب سرد محصول تا °C ۳۰ خنک پس به سردخانه °C ۴ انتقال داده شدند (ملکی کهکی و همکاران، ۱۳۹۶).

جدول ۱- فرمولاسیون تیمارهای مورد بررسی در پژوهش حاضر

تیمار	گوشت	روغن	آب و یخ	نیتریت سدیم	ترکیب پودر کاهو و رازیانه
Control	٪۵۵	٪۱۱	٪۱۸	۱۲۰ppm	صفر Ppm
T_1	٪۵۵	٪۱۱	٪۱۸	۹۰ ppm	۳۰ppm
T_2	٪۵۵	٪۱۱	٪۱۸	۶۰ ppm	۶۰ ppm
T_3	٪۵۵	٪۱۱	٪۱۸	۳۰ppm	۹۰ ppm
T_4	٪۵۵	٪۱۱	٪۱۸	صفر ppm	۱۲۰ppm

اندازه‌گیری pH

ابتدا نمونه‌ها با نسبت ۹ به ۱ با آب مقطر مخلوط و سپس pH نمونه‌ها با pHمتر (Martini، ایتالیا) اندازه‌گیری و ثبت شد (استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۲۸، ۱۳۸۶).

اندازه‌گیری میزان خاکستر

مقدار g ۲ از نمونه همگن توزین و درون کوره الکتریکی (SAT، ایران) با دمای °C ۵۵۰ تا ظهور خاکستر سفید رنگ قرار داده شد. میزان خاکستر از فرمول زیر محاسبه و گزارش شد (استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۴، ۱۳۸۱).

$$\text{درصد خاکستر} = \frac{m0-m2}{m0-m1} \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

که در آن: m_0= وزن بوته خالی بر حسب گرم، m_1= وزن بوته حاوی نمونه بر حسب گرم، m_2= وزن بوته حاوی خاکستر برحسب گرم.

اندازه‌گیری میزان رطوبت

ابتدا ۵ g از نمونه همگن توزین و درون پلیت شیشه‌ای که قبلاً در آون با دمای ۱۳۰ °C به وزن ثابت رسیده و خنک شده، ریخته شد سپس ۵ ml میلی‌لیتر الکل اتیلیک به ظرف اضافه و به‌طور کامل اختلاط انجام شد. سپس پلیت روی بن ماری (شیماز، SHWBT 4، ایران) با دمای ۶۰–۸۰ °C تا تبخیر کامل الکل قرار داده شد. در نهایت پلیت مجدداً درون آون با دمای ۱۳۰ °C به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. میزان رطوبت از فرمول زیر محاسبه و گزارش شد (استاندارد ملی ایران شماره ۷۴۵، ۱۳۸۲).

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{m1-m2}{m1-m0} \times ۱۰۰ \quad (۲)$$

که در آن: m_0= وزن پلیت خالی بر حسب گرم، m_1= وزن پلیت حاوی نمونه قبل از خشک کردن بر حسب گرم، m_2= وزن پلیت حاوی نمونه بعد از خشک کردن برحسب گرم.

اندازه‌گیری میزان نیتریت باقی‌مانده

۱۰ گرم از نمونه همگن به ارلن مایر منتقل شد؛ ۵ ml محلول بوراکس اشباع و ۱۰۰ ml آب مقطر با دمای حداقل ۷۰ °C به آن افزوده شد. پس از رسیدن دمای محلول به دمای اتاق، ۲ ml محلول فروسیانور پتاسیم و ۲ ml محلول استات روی به آن افزوده و به‌خوبی مخلوط شدند. محلول به‌دست آمده درون بالن ژوژه ۲۰۰ ml با آب مقطر رقیق شد. پس از ۳۰ min محلول روئی با کاغذ صافی چین‌دار صاف شد. سپس ۶۰ ml محلول صاف شده با ۱۰ ml سولفانیل آمید و سپس ml ۶ کلریک اسید غلیظ کاملاً مخلوط و به مدت ۳–۱۰ min در دمای اتاق در محیط تاریک نگهداری شد. نهایتاً محلول تا ۱۰۰ ml با آب مقطر رقیق شد. جذب محلول در اسپکتوفتومتر (Unicorn، 2100، آمریکا) در طول موج ۵۳۸ nm قرائت شد. مقدار نیتریت بر حسب میلی-گرم نیتریت سدیم در کیلوگرم از فرمول زیر محاسبه و گزارش شد (استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۳، ۱۳۷۵).

$$\text{NaNo2} = \text{C} \times \frac{2000}{m.v} \quad (۳)$$

که در آن: m= مقدار نمونه حسب گرم، v= حجم محلول صاف شده بر حسب میلی‌لیتر، C= غلظت نیتریت سدیم بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر

اندازه‌گیری میزان تیوباربیتوریک اسید

آماده‌سازی نمونه مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۳۲۲۶ (۱۳۷۳) انجام شد. ۵۰ mg از روغن استخراج شده نمونه داخل بالن حجمی ۲۵ ml وزن و سپس درون محلول ۱- بوتانل حل و با همین محلول به حجم رسید. ۵ ml از محلول نمونه به یک لوله آزمایش خشک منتقل شد و سپس ۵ ml محلول واکنشگر تیوباربیتوریک اسید به آن افزوده شد. درب لوله آزمایش بسته و محتویات آن کاملاً با یکدیگر مخلوط شدند. لوله آزمایش درون حمام آب (شیماز، ایران) ۹۵ °C به مدت ۱۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس با قرار دادن لوله زیر شیرآب تا رسیدن به دمای محیط خنک شد. میزان جذب نمونه در اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۳۰ nm قرائت شد و میزان تیوباربیتوریک اسید بر اساس فرمول زیر محاسبه و گزارش شد (استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۴۹۴، ۱۳۸۶).

$$\text{TBA} = \frac{50 \times (A-B)}{m} \times 100 \quad (۴)$$

که در آن: A= میزان جذب محلول آزمایش، B= میزان جذب محلول آزمایش، m= جرم نمونه بر حسب گرم.

اندازه‌گیری میزان پراکسید

۳ mg از نمونه آماده‌سازی شده مطابق استاندارد ۳۲۲۶ (۱۳۷۳) درون ارلن مایر توزین و پس از بستن درب آن به‌منظور آب شدن چربی در حمام آب ۶۰ °C به مدت ۳ min حرارت داده شد. سپس ۳۰ ml محلول استیک اسید- کلروفورم به آن افزوده و ۳ min تکان داده شد تا چربی به‌طور کامل در آن حل شود. نمونه تحت شرایط خلاء، با کاغذ صافی واتمن، صاف و تصفیه شد. در نهایت ۰/۵ ml یدید پتاسیم اشباع به محلول صاف شده افزوده و با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ N تیتر شد. عدد پراکسید برحسب میلی‌اکی والان گرم اکسیژن فعال در هر کیلوگرم با استفاده از فرمول ذیل محاسبه و گزارش شد (استاندارد ملی ایران شماره ۱۹۱۹۷، ۱۳۹۳).

$$\text{PV} = \frac{(V-V0)\, c\, (Na2\, S2\, O3) f}{m} \quad (۵)$$

که در آن: $c\ (Na_2S_2O_3)$= غلظت محلول تیوسولفات پتاسیم بر حسب مول بر لیتر، f= ضریب محلول تیوسولفات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال، V= حجم محلول تیو سولفات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال برای نمونه، V_0= حجم محلول تیو سولفات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال برای شاهد.

اندازه‌گیری رنگ

شدت رنگ تیمارها با دستگاه هانتر لب (M.A.H.3000، آمریکا) اندازه‌گیری شد. دستگاه توسط یک صفحه سفید کالیبره شد (L*= 90.26، a*= -1.29 ، b*=5.18). مقادیر بیان شده به صورت L* (روشنایی)، a* (قرمزی) و b* (زردی) از پنج ناحیه برش مختلف

سوسیس به‌دست آمد. اختلاف رنگ کلی (ΔE) بین روزهای صفر و ۳۰ برای هریک از نمونه‌ها از فرمول زیر محاسبه و گزارش شد (Rojsuntornkitti *et al*., 2010).

$$\Delta E = \sqrt{(L30 - L0)^2 + (a30 - a0)^2 + (b30 - b0)^2} \quad (۶)$$

آزمون‌های میکروبی

این آزمون‌ها شامل بار میکروبی کل مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۲ (۱۳۷۱)، شمارش کپک و مخمر مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۸۹۹ (۱۳۸۷)، آزمون کلی‌فرم مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶ (۱۳۸۷) و آزمون *کلستریدیوم پرفرنجس* مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۱۹۷ (۱۳۸۵) انجام شد.

آزمون ارزیابی حسی

ابتدا نمونه‌ها در روغن $^{\circ}C$ ۱۰۰ به مدت min ۴ سرخ شدند و سپس به قطعات یکسان (cm ۳) بریده و توسط ۱۰ نفر ارزیاب از طریق آزمون ترجیحی (تست هدونیک ۵ نقطه‌ای) از لحاظ طعم، رنگ، بافت، مزه و قابلیت پذیرش در روزهای ۱، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ تولید با یکدیگر مقایسه شدند (Cierach *et al*., 2009).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تعداد کل تیمارها در این تحقیق ۵ عدد در نظر گرفته شد. نتایج سه تکرار حاصل از آزمون‌های شیمیایی روی نمونه‌های مختلف تولید شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS ۲۱ بررسی شدند، همچنین در صورت معنی‌دار بودن اثرات مورد بررسی در جدول تجزیه واریانس، با سطح احتمال خطا ۰/۰۵درصد انجام شد.

نتایج و بحث

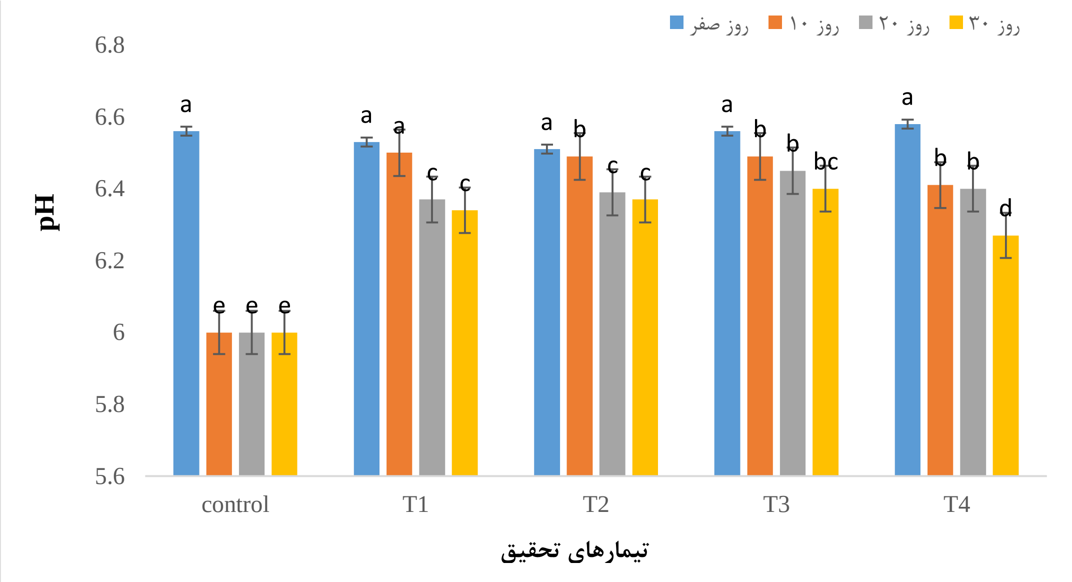
با توسعه زندگی مدرن، مصرف فرآورده‌های گوشتی مانند سوسیس وکالباس در بین مردم رواج یافته است. این فرآورده‌ها علاوه بر گوشت، به‌عنوان منبع تغذیه‌ای مهم انسانی، حاوی چربی، اسیدهای چرب اشباع، نمک‌های کلرید و سدیم نیتریت هستند. نیترات به‌طور خاص نیتریت ویژگی‌های متمایزی را در سالم‌سازی گوشت از جمله ایجاد رنگ صورتی که نشان‌دهنده کیفیت محصول گوشتی پخته شده و مورد نظر مصرف کننده است، مهار اکسیداسیون چربی، ایجاد طعم مطلوب و از همه مهمتر خاصیت ضدمیکروبی مخصوصاً علیه باکتری *کلستریدیوم بوتولینیوم* ایفاء می‌کنند (Riyad *et al*., 2018). علیرغم تمام خواص مورد نظر، به دلیل واکنش نیتریت با آمین‌های ثانویه و اسیدهای امینه در پروتئین‌های عضلانی و احتمال تشکیل نیتروزآمین‌های سرطان‌زا، استفاده از آن از لحاظ ایمنی مورد تردید قرارگرفته است. در این تحقیق از ترکیب پودر کاهو و رازیانه به‌عنوان جایگزین طبیعی نیترات در فرمولاسیون سوسیس و بررسی ویژگی‌های تیمارها صورت گرفت. جدول ۲ ارزیابی ویژگی شیمیایی پودر کاهو و رازیانه قبل از اضافه کردن به فرمولاسیون سوسیس‌ها را نشان می‌دهد.

جدول ۲- نتایج ترکیبات تقریبی و pH پودر کاهو و رازیانه

ماده	رطوبت (درصد)	pH	خاکستر (درصد)	نیترات (ppm)	نیتریت (ppm)
پودر کاهو	۱۱/۶۶	۵/۷۹	۴/۳	۳۷۸۷	۶/۹۹
پودر رازیانه	۱۱/۳۳	۵/۹۸	۳/۵۹	۱۸۸۰	۷/۵۴

بررسی روند تغییرات pH در تیمارها

pH ماده غذایی در ارتباط با واکنش‌های شیمیایی و میکروبی درون آن است که کاهش کیفیت ماده غذایی را به دنبال دارند. تأثیر معنادار ($p<0.05$) پودرکاهو و رازیانه بر pH تیمارها در شکل ۱ مشهود است. pH نمونه شاهد نسبت به سایر تیمارها بالاتر بود؛ به‌طورکلی، کاهش pH طی ۳۰ روز نگهداری در تمامی تیمارها مشاهده شد. افزودن ترکیبات با pH پایین، کاهش pH را به دنبال دارد اما به دلیل خاصیت بافری گوشت، به علت حضور ترکیبات پروتئینی مختلف، تغییرات pH زیاد نیست. بنابراین، کاهش pH می‌تواند در ارتباط با بقاء و رشد آهسته باکتری‌های تولیدکننده لاکتیک اسید در طول و بعد از تولید محصول باشد (Riyad *et al*., 2018). نتایج Sindelar و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده است که مقدار pH وابسته به نیتریت شکل گرفته در پودر عصاره است و این روند کاهشی pH در اثر تولید لاکتیک اسید از متابولیسم باکتری‌ها از رشد کلی‌فرم‌ها جلوگیری کرده و افزایش ماندگاری محصول را به دنبال دارددر این راستا، Sindelar و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که pH گوشت بعد از افزودن پودر گیاه کاهش یافت. Sucu و همکاران (۲۰۱۸) نیز نشان دادند افزودنی های بر پایه سبزیجات از جمله پودر کرفس، تره فرنگی منجر به کاهش pH محصولات گوشتی شد.

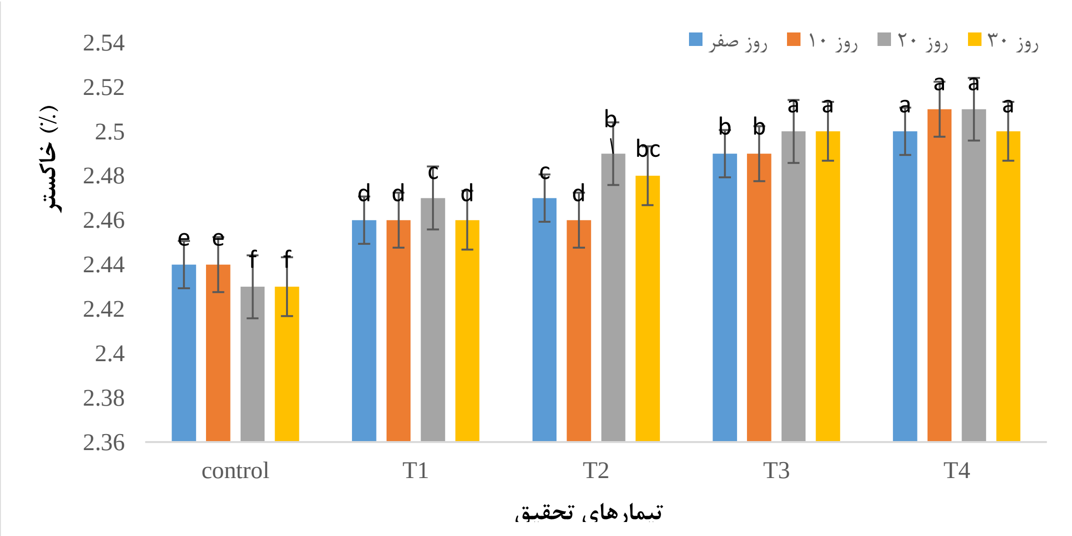


شکل ۱- بررسی روند تغییرات pH نمونه‌های سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه

بررسی روند تغییرات خاکستر در تیمارها

خاکستر محصولات گوشتی به‌عنوان ماده غیرمعدنی باقی‌مانده بعد از سوختن نمونه در حضور هوا و فشار اتمسفر تعریف می‌گردد. این ترکیب از مواد معدنی نمونه به شکل اکسید، سولفات، سیلیکات و کلرید تشکیل شده است که نسبت آن به ترکیب اولیه نمونه و شرایط اشباع بستگی دارد (Kayisoglu *et al.*, 2003). مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۰۳ بیشینه میزان خاکستر سوسیس (محتوی بالاتر ۵۰ درصد گوشت) برابر ۲/۵درصد است. شکل ۲ میزان تغییرات خاکستر در نمونه شاهد و تیمارها را نشان می‌دهد؛ مطابق نتایج میزان خاکستر تمامی تیمارها در محدوده استاندارد قرار داشتند و افزودن پودر کاهو و رازیانه افزایش خاکستر تیمارها را به دنبال داشت. خاکستر موجود در فرآورده-های گوشتی بازگو کننده نوع مواد به‌کار رفته در فرآیند تولید این محصولات است بالاتر بودن میزان خاکستر در فرآورده نشان‌دهنده افزایش بیش از حد مجاز پرکننده‌های گیاهی در فرمولاسیون است. به دلیل منشاء گیاهی این افزودنی‌ها و محتوی بالای مواد معدنی در گروه سبزیجات، مقدار خاکستر افزایش نشان داد (Nielsen *et al.*, 2010).

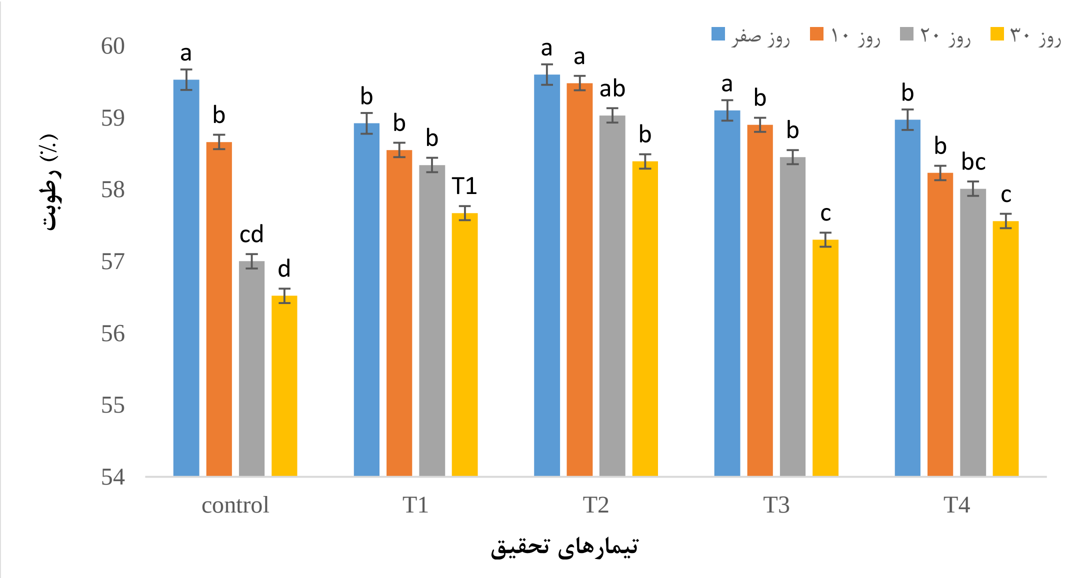
Jinو همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند افزودن پودر جغندر به‌عنوان جایگزین نیترات در سوسیس گوشت خوک افزایش خاکستر این فرآورده را نسبت به نمونه شاهد داشت.



شکل ۲- بررسی روند تغییرات خاکستر نمونه‌های سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه

بررسی روند تغییرات رطوبت در تیمارها

شکل ۳ روند تغییرات رطوبت تیمارها را نشان می‌دهد. همانطورکه مشخص است اختلاف معناداری ($p<0.05$) در رطوبت نمونه‌های تیمار شده با پودر کاهو و رازیانه مشاهده شد. بالا بودن میزان رطوبت یک فرآورده گوشتی بیانگر این واقعیت است که تا حدودی آب جایگزین عناصر مغذی اساسی در این فرآورده‌ها شده است بیشترین میزان رطوبت مربوط به تیمار T_2 (۶۰ ppm پودر کاهو و رازیانه) با میانگین ۵۹/۱۲٪ و کمترین میزان رطوبت مربوط به تیمار شاهد (۵۶/۵۲٪ در روز ۳۰) بود. از آنجا که آب در هنگام خشک شدن با توجه به شرایط رطوبت نسبی تبخیر می‌شود، کاهش رطوبت (از دست دادن وزن) سوسیس‌ها مطابق انتظار بود؛ رطوبت کمتر در محصولات با فرمولاسیون عصاره را می‌توان با محتوای بالای فیبر در عصاره توضیح داد که با تسهیل از دست دادن رطوبت کاهش وزن بیشتر و فعالیت آبی کمتر در این تیمارها قابل توجیه است (Ozaki *et al.*,2020)، از طرفی افزودن ترکیب پودر کاهو افزایش جزئی رطوبت محصول را به دلیل مخلوط شدن با آب برای وارد کردن به فرمولاسیون تیمارها را نشان داد؛ زیرا افزایش فیبر (پودر کاهو) افزوده شده به تیمارها، میزان آب افزوده شده به فرمولاسیون افزایش یافت. در این رابطه خالقی و حسینی (۱۳۹۶) نیز کاهش میزان رطوبت در سوسیس‌های تیمار شده با تفاله پودرگوجه فرنگی را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. Ozaki و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند افزودن پودر عصاره تربچه و چغندر به‌عنوان جایگزین نیتریت،کاهش محتوی رطوبتی را در سوسیس‌های تخمیری به دنبال داشت.

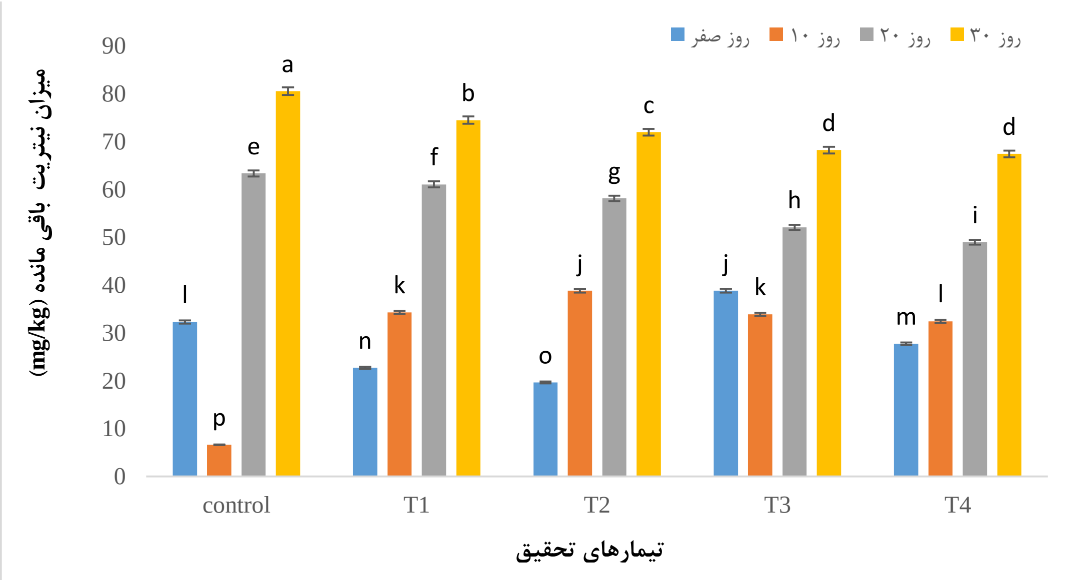


شکل ۳- بررسی روند تغییرات رطوبت نمونه‌های سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه

بررسی روند میزان نیتریت باقی‌مانده در تیمارها

افزودنی‌های نیترات و نیتریت سدیم از دیرباز در صنایع غذایی به‌عنوان تثبیت رنگ قرمز گوشت و جلوگیری از فعالیت میکروارگانیسم-های عامل فساد و نیز ایجاد طعم مطلوب استفاده می‌شوند.از آنجائیکه کاربرد اصلی این مواد جلوگیری از رشد *کلستردیوم بوتولینیوم* است، میزان غلظت نیتریت باقی‌مانده در محصولات عمل‌آوری شده حائز اهمیـت است، زیرا زمان ماندگاری محصول تا حد زیادی به این ماده نگهدارنده بستگی دارد (Dineen *et al.*, 2000; Borchert *et al.*,1998). میزان نیتریت بـاقی‌مانده خصوصیاتی مثل رنگ و خواص حسی و عطر و طعم محصول را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد (سیفی نوفرستی و همکاران، ۱۳۹۶). در ایران حد مجاز نیتریت و نیترات در فرآورده‌های گوشتی به‌ترتیب ۱۲۰ و ۵۰۰ ppm تعیین شده است (استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۰۳، ۱۳۸۴). شکل ۴ میزان نیتریت باقی‌مانده در تیمارها را طی ۳۰ روز نگهداری نشان می‌دهد. بالاترین میزان نیتریت مربوط به نمونه شاهد بود ($p<0.05$) و اعمال سطوح ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ppm پودر کاهو و رازیانه به‌ترتیب کاهش ۱۷، ۱۸، ۱۶ و ۲۴٪ را نشان داد. در تیمار T_4 (۱۲۰ ppm پودر کاهو و رازیانه) مقدار نیتریت به‌طور کامل با ترکیب پودر کاهو و رازیانه جایگزین شده است و حاوی کمترین میزان نیتریت بود ($p<0.05$). برخی از محققین، محتوی میزان نیتراتات باقی‌مانده در محصولات فرآوری شده مثل پختن، گرم کردن، دودی کردن و بسته‌بندی شده را وابسته به دو فاکتور دما و زمان نگهداری معرفی کردند (Ahn *et al.*, 2002; Jantawat *et al.*, 1993). میزان محتوی نیتریت در حین تولید به مقدار نیتریت ورودی بستگی دارد با این حال، مقدار نیتریت در هنگام استفاده از

عصاره گیاهی در فرمولاسیون مشخص نیست و نرخ تبدیل نیترات به نیتریت طی تخمیر در محتوی نیتریت عصاره گیاهی موثر است (Riad *et al.*, 2018; Hwang *et al.*, 2018). به‌طور کلی مقدار نیتریت پس از تولید و طی زمان نگهداری افزایش پیدا می‌کند، که نشان‌دهنده نیتریت در پودر کاهو و رازیانه است (Sebranek and Bacus, 2007). Jinو همکاران (۲۰۱۴)، افزودن پودر چغندر افزایش نیتریت باقی مانده در سویس گوشت خوک را به دلیل محتوی نیتریت خود چغندر قند را در طول دروه نگهداری نشان دادند. Doolaege و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که افزودن عصاره رزماری کاهش نیترات باقی‌مانده در پاته جگر را به همراه داشت و افزایش درصد عصاره کاهش بیشتر نیترات را به همراه داشت. Tahmouzi و همکاران (۲۰۱۲) نیز کاهش نیترات را با افزایش میزان چغندر در سوسیس را گزارش دادند.



شکل ٤- بررسی میزان نیتریت باقی‌مانده نمونه‌های سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه

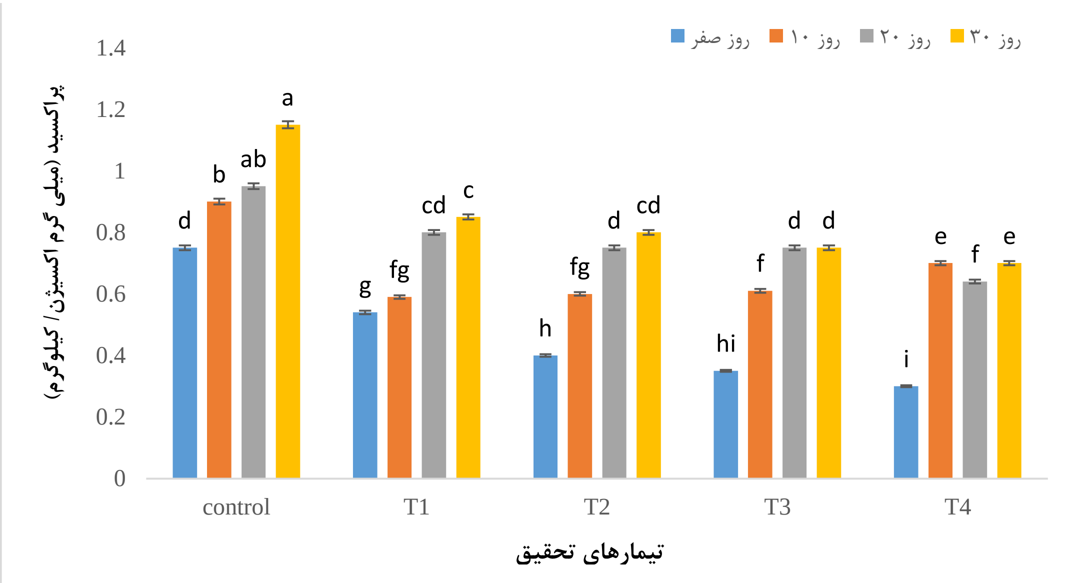
بررسی روند تغییرات پراکسید در تیمارها

پراکسید یا اکسیژن فعال محصول اولیه اکسیداسیون و محصولاتی ناپایدار بوده که در اثر تجزیه شدن به ترکیبات مختلف بوی نامطلوب و حالت بیاتی در محصولات را به‌وجود می‌آوردند (Teye *et al.*, 2011). مقایسه میانگین پراکسید تیمارها در شکل ۵ نشان داده شده است. افزایش پودر کاهو و رازیانه، کاهش بیشتر عدد پراکسید را نشان داد ($p<0.05$). با حذف کامل نیترات از روند کاهشی عدد پراکسید اندکی کاسته شد که احتمالاً به دلیل محتوی آنتی اکسیدان‌های طبیعی در درصد بالای پودر کاهو است با توجه به عدد پراکسید ۲۵ meq O_2/kg قابل قبول در برای مواد غذایی مانند سوسیس (Sallam *et al.*, 2004)، نتایج نشان داد تمام نمونه‌های مورد آزمایش تا پایان روز ۳۰ از عدد پراکسید مورد قبول پایین‌تر بودند. پایین‌تر از حد بودن عدد پراکسید تمام نمونه‌ها تا پایان زمان نگهداری به علت طولانی شدن دوره اکسیداسیون و کاهش تشکیل هیدرپراکسیدها و حضور آنتی‌اکسیدان-هاست (Gotoh and Wada, 2006). Roby و همکاران (۲۰۱۳)، طی بررسی فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه رازیانه و بابونه شاهد کاهش مقدار اندیس پراکسید بودند که با محتوای فنلی بالای این دوگیاه ارتباط داشت. Sriket و همکاران (۲۰۲۰) نیز کاهش تشکیل هیدروپراکسیدها را در طی افزودن عصاره پودر ریحان شیرین به سوسیس خوک طی ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچالی نسبت به نمونه شاهد را نشان دادند.

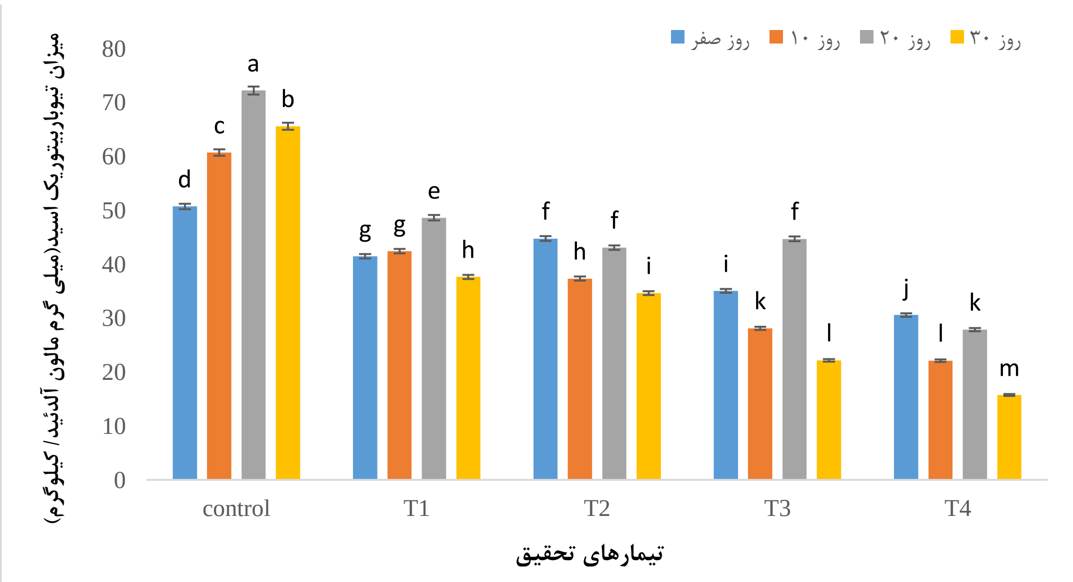
بررسی روند تغییرات تیوباربیتوریک اسید در تیمارها

شاخص تیوباربیتوریک اسید میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون بویژه آلدئیدها را نشان می‌دهد. نتایج معنادار اثر متقابل پودر کاهو و رازیانه و زمان نگهداری را بر تغییرات TBA طی ۳۰ روز نگهداری در شکل ۶ نشان داده شده است ($p<0.05$). کاهش ۳۳، ۳۶، ۴۸ و ۶۲٪ میزان تیوباربیتوریک به‌ترتیب با اعمال ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ppm پودر کاهو و رازیانه مشاهده شد. این کاهش در بعضی از روزهای نگهداری ممکن است به دلیل کاهش هیدروپراکسیدها و واکنش بین مالون آلدهید با پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و گلیکوژن باشد که باعث کاهش مقادیر مالون آلدهید می‌شود (Gomes *et al.* 2003). در روز ۲۰ میزان TBA در تمامی تیمارها افزایش و سپس کاهش یافت که علت آن تجزیه و پلیمراسیون مالون آلدئید می‌باشد (Vossen *et al.*, 2012). مطابق تحقیقات Jebeli Javan و همکاران (۲۰۱۴) حداکثر میزان قابل قبول تیوباربیتورک اسید در فرآورده‌های گوشتی ۲۰۰ mg Malone Aldehyde /Kg معرفی شده است. نتایج نشان

داد در هیچکدام از گروه‌های آزمایش نگهداری شده، عدد تیوباربیتوریک اسید، بیشتر از حد مجاز گفته شده توسط محققین فوق نبود. در پژوهش Khaleghi و همکاران (۲۰۱۶)، طی جایگزینی نیتریت در سوسیس با زرشک سیاه کاهش TBA از روز ۹ تا ۲۳ مشاهده شد. Georgantelis و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که افزودن پودر ترکیبی عصاره زماری و کیتوزان بالاترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد به‌طوریکه بیشترین میزان مالون آلدئید در سوسیس گوشت خوک نگهداری شده در یخچال طی ۱۵ روز مشاهده شد و بعد از آن (طی ۲۰ روز نگهداری) کاهش نشان داد.



شکل ۵- بررسی تغییرات عدد پراکسید نمونه‌های سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه



شکل ۵- بررسی میزان تیوباربیتوریک اسید باقی‌مانده نمونه‌های سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه

آزمون میکروبی در تیمارها

جدول ۳ نتایج شاخص‌های میکروبی در تیمارها را نشان می‌دهد. در تمامی نمونه‌ها زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر بار میکروبی محصولات داشته است. میزان رشد باکتری‌ها در تیمارهای حاوی پودر کاهو و رازیانه و نیتریت کمتر بود که احتمالاً به دلیل pH پایین‌تر این تیمارها در مقایسه با سایر تیمارهاست. به‌طور کلی روند افزایشی در

میزان بار میکروبی در تمامی تیمارها طی ۳۰ روز نگهداری مشاهده شد. بیشینه حد مجاز شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در یک گرم سوسیس 10^5 cfu/g است که در تمامی تیمارها زمان نگهداری اثر معنی‌داری بر رشد باکتری‌ها نشان داده است (استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۰۳، ۱۳۸۴).

جدول ۳- نتایج آزمون میکروبی در سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه طی ۳۰ روز نگهداری

تیمار	روز	بار میکروبی کل	کپک و مخمر	کلستریدیوم	کلی‌فرم
Control	صفر	۱۰×۱۰^{۲k}	<10	Neg	Neg
	۱۰	۱۵×۱۰^{۲j}	<10	Neg	Neg
	۲۰	۲۱/۶۶×۱۰^{۲h}	<10	Neg	Neg
	۳۰	۲۰/۳۳×۱۰^{۲h}	<10	Neg	Neg
T_1	صفر	۱۰/۶۶×۱۰^{۲k}	<10	Neg	Neg
	۱۰	۱۹/۶۵×۱۰^{۲i}	<10	Neg	Neg
	۲۰	۲۱/۶۶×۱۰^{۲h}	<10	Neg	Neg
	۳۰	۲۱/۶۷×۱۰^{۲h}	<10	Neg	Neg
T_2	صفر	۱۵/۳۳×۱۰^{۲j}	<10	Neg	Neg
	۱۰	۲۷×۱۰^{۲f}	<10	Neg	Neg
	۲۰	۳۲/۶۶×۱۰^{۲e}	<10	Neg	Neg
	۳۰	۴۰×۱۰^{۲de}	<10	Neg	Neg
T_3	صفر	۲۰×۱۰^{۲h}	<10	Neg	Neg
	۱۰	۳۰/۳۳×۱۰^{۲e}	<10	Neg	Neg
	۲۰	۵۲×۱۰^{۲d}	<10	Neg	Neg
	۳۰	۶۵/۶۶×۱۰^{۲c}	<10	Neg	Neg
T_4	صفر	۲۴/۸۳×۱۰^{۲g}	<10	Neg	Neg
	۱۰	۳۳/۳۳×۱۰^{۲e}	<10	Neg	Neg
	۲۰	۷۰×۱۰^{۲b}	<10	Neg	Neg
	۳۰	۸۱/۶۶×۱۰^{۲a}	<10	Neg	Neg

همانطورکه از مطالعات پیشین مشخص است، غلظت نیتریت باقی مانده بر رشد باکتری‌ها موثر است همانطورکه مشخص است در نمونه شاهد که میزان نیتریت ۱۲۰ppm است، بیشترین مقاومت به رشد باکتری‌ها مشاهده شد. مولانژاد و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی کیتوزان به‌عنوان جایگزین طبیعی نیتریت سدیم روند افزایشی شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها را طی ۶۰ روز نگهداری محصول نشان دادند. سیفی نوفرستی و همکاران (۱۳۹۶) افزایش بار میکروبی سوسیس‌های تیمار شده با اسکوربیک اسید به‌عنوان جایگزین طبیعی نیترات را در روز ۲۱ نگهداری نشان دادند. با توجه به نتایج به‌دست آمده در طی ۳۰ روز *کلستریدیوم پرفرینجنس*، کپک و مخمر رشد نکرد، حتی با حذف کامل نیتریت در تیمار T_4 نیز کلستریدیوم رشد نکرد. مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۰۳ (۱۳۸۴) حدود قابل قبول *کلستریدیوم پرفرینجنس*، کپک و مخمر در یک گرم سوسیس به‌ترتیب بیشینه ۵۰ و ۱۰۰ کلنی است که عدم رشد باکتری‌های مذکور احتمالاً مربوط به فرآیند مناسب حرارتی و اثر بازدارندگی نیترات موجود در پودر کاهو و رازیانه می‌باشد. Tahmouzi و همکاران (۲۰۱۲) نیز عدم رشد *کلستریدیوم پرفرینجنس* در سوسیس فرانکفورتر طی مدت زمان نگهداری در دمای $4^{\circ C}$ را گزارش داد. خدائی و همکاران (۱۳۹۶) طی بررسی جایگزینی نیترات با اسانس رزماری و پودر چغندر قند در فرمولاسیون سوسیس رشد کپک و مخمر را فقط در روزهای ۲۸ و ۳۵ در نمونه‌های شاهد را گزارش کردند. کلی‌فرم‌ها شاخص ارزیابی وضعیت بهداشتی و آلودگی مواد غذایی می‌باشند. نتایج تحقیق حاضر حاکی از آن بود که در تمام سطوح استفاده شده پودر کاهو و رازیانه در طول ۳۰ روز نگهداری، هیچگونه رشد کلیفرم مشاهده نشد. مطابق استاندارد ۲۳۰۳ (۱۳۸۴) حداقل دُز مجاز کلی‌فرم در سوسیس برابر ۱ log cfu/g است که تمامی تیمارهای تحقیق در محدوده استاندارد مذکور بودند. خدائی و همکاران (۱۳۹۶)

طی بررسی جایگزینی نیترات با اسانس رزماری و پودر چغندر قند در فرمولاسیون سوسیس رشد کپک و مخمر را فقط در روز ۳۵ نمونه‌های شاهد را گزارش کردند.

رنگ در تیمارها

رنگ مهمترین پارامتری است که نشانگر کیفیت ماده غذایی است و یک محصول غذایی ممکن است به دلیل رنگ نامطلوبش مورد پذیرش مصرف کننده واقع نگردد. به‌طورکلی عمل‌آوری گوشت به همراه ترکیباتی بر پایه نمک، شکر و سایر شیرین‌کننده‌ها و نیتریت برای به‌دست آوردن طعم و بافت ویژه می‌باشد. نیترات بر اثر باکتری-های آغازگر موجود در گوشت یا همراه خود نیترات، به نیتریت تبدیل شده و نیتریت نیز در اثر حرارت به اکسید نیتریک که عامل رنگ مطلوب گوشت است تبدیل می‌گردد (Shahidi, 1998). مقایسه آنالیز متقابل تیمار در زمان میانگین آزمون رنگ‌سنجی بین تیمارها در جدول ۴ و اختلاف رنگ آن‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج به‌دست آمده از سنجش میزان رنگ با میزان نیتریت باقی‌مانده و اندیس قرمزی (a*) مطابق است. تیمار T_4 (۱۲۰ ppm پودر کاهو و رازیانه) با کمترین مقدار نیتریت باقی مانده دارای کمترین مقدار اندیس قرمزی بود؛ همچنین تیمار T_1 ۳۰ ppm پودر کاهو و رازیانه) و T_2 (۶۰ ppm پودر کاهو و رازیانه) نسبت به نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند. میزان نیتریت باقی مانده بر ثبات رنگ موثر بود. (سیفی نوفرستی و همکاران، ۱۳۹۶).

جدول ٤- نتایج آزمون رنگ در سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه طی ۳۰ روز نگهداری

پارامتر	تیمار	روز صفر	روز ۱۰	روز ۲۰	روز ۳۰
a*	Control	-۹/۳۷± ۱/۶^{h}	-۸/۵۷۳± ۱/۶۹^{g}	-۱۰/۹۹± ۰/۱۸^{ij}	-۹/۵۷۳± ۱/۱۰۷^{h}
	T_1	-۱۱/۴± ۰/۷۱^{j}	-۹/۲۹± ۱/۶۷^{h}	-۱۰/۱۲± ۰/۴۷^{i}	-۹/۶۴± ۳/۶^{h}
	T_2	-۱۲/۶۸± ۰/۶۳^{k}	-۸/۴۴۶± ۲/۲۹^{g}	-۱۰/۶۲± ۰/۰۷^{i}	-۱۱/۴۴± ۰/۳۶^{j}
	T_3	-۱۱/۰۲± ۰/۸۹^{j}	-۱۲/۳۴± ۰/۶۸^{k}	-۱۲/۹۳± ۰/۰۲۸^{l}	-۹/۰۱۶± ۰/۱۳۵^{h}
	T_4	-۱۰/۰۸± ۰/۶۴^{i}	-۱۲/۳۴± ۰/۱۳۲^{k}	-۸/۶۷۳± ۱/۳۶^{g}	-۸/۳۲۶± ۰/۲۷^{g}
b*	Control	۳۵/۴۲± ۷/۹^{cd}	۴۰/۵۴± ۵/۸^{c}	۴۲/۴۳± ۰/۴۸^{c}	۳۳/۶۵± ۴/۲۸^{d}
	T_1	۳۶/۷۴± ۲/۷۴^{c}	۳۴/۹۳± ۶/۰۶^{cd}	۴۰/۹۶± ۰/۲۳^{c}	۳۷/۳۳± ۱/۳۴^{c}
	T_2	۳۴/۵۸± ۱/۵۱^{cd}	۳۰/۳۷± ۷/۹۵^{e}	۳۵± ۰/۲۷^{cd}	۲۹/۷۵± ۱/۱۷^{e}
	T_3	۳۳/۹۶± ۳/۳۹^{d}	۲۹/۰۵± ۲/۸۴^{e}	۳۳/۷۳± ۱/۰۸^{d}	۳۶/۶۰± ۰/۲۷^{c}
	T_4	۲۹/۰۶± ۸/۳^{e}	۲۸/۲۱± ۵/۱۶^{e}	۲۵/۷۷± ۳/۶۰^{f}	۲۲/۴۴± ۰/۸۳^{g}
L*	Control	۹۶/۸۷۶± ۳/۰۷^{b}	۹۸/۸۲۳± ۰/۲۳^{a}	۹۸/۴۸۳± ۰/۰۴^{a}	۹۸/۶۶± ۰/۱۵^{a}
	T_1	۹۸/۴۴۳± ۰/۰۹^{a}	۹۸/۷۲۶± ۰/۲۲^{a}	۹۸/۱۰۳± ۰/۲۶^{a}	۹۸/۹۱۶± ۰/۸۹^{a}
	T_2	۹۸/۱۹۳± ۰/۱۸^{a}	۹۸/۸۴± ۰/۳۱^{a}	۹۸/۵۴۳± ۰/۰۵^{a}	۹۸/۴۳۳± ۰/۰۴^{a}
	T_3	۹۸/۴۹۶± ۰/۱۲^{a}	۹۸/۳۲۳± ۰/۰۹^{a}	۹۸/۲۶± ۰/۰۳^{a}	۹۸/۷۶۳± ۰/۰۱۵^{a}
	T_4	۹۸/۸۰۳± ۰/۳۰^{a}	۹۸/۳۲± ۰/۰۱۷^{a}	۹۸/۷۶۶± ۰/۱۵^{a}	۹۹/۴± ۰/۰۳۴^{a}

جدول ۵- نتایج آزمون اختلاف رنگ در سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه طی ۳۰ روز نگهداری

تیمار	ΔE(0-30)
Control	۵/۵۱۵
T_1	۱/۹۱۴
T_2	۵/۵۰۶
T_3	۵/۷۳۰
T_4	۵/۹۳۰

به‌طورکلی نتایج نشان داد شاخص قرمزی در تیمارها با گذشت زمان افزایش یافت Hosseinpour و همکاران (۱۳۹۲) با به‌کارگیری رنگ‌های طبیعی کوچینیل و پاپیریکا در سوسیس‌های فرانکفورتر گزارش کردند که جایگزینی رنگدانه‌ها در نمونه‌های سوسیس با میزان جایگزینی ۱ mg پاپریکا و ۴۰ mg نیتریت و یا نمونه دارای ۰/۰۰۲٪ و ۴۰ mg نیتریت مشابه با نمونه شاهد ۱۲۰ mg نیتریت و شاخص a*

در آن مشابه است ولی با افزایش مقدار جایگزینی این شاخص کاهش یافت. از طرفی نشان دادند زمان نگهداری از هفته ۰ تا ۴ نگهداری، مقدار شاخص قرمزی در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت. Mansi و همکاران (۲۰۰۹) کاهش میزان قرمزی در نمونه فرآورده‌های گوشتی را نشان دادند که علت آن را اکسیداسیون رنگدانه های قرمز گزارش دادند که با نتایج بدست آمده این تحقیق مطابقت نداشت که این امر احتمالاً به دلیل تأثیر نیترات باقیمانده بر ثبات رنگ تیمارهاست.

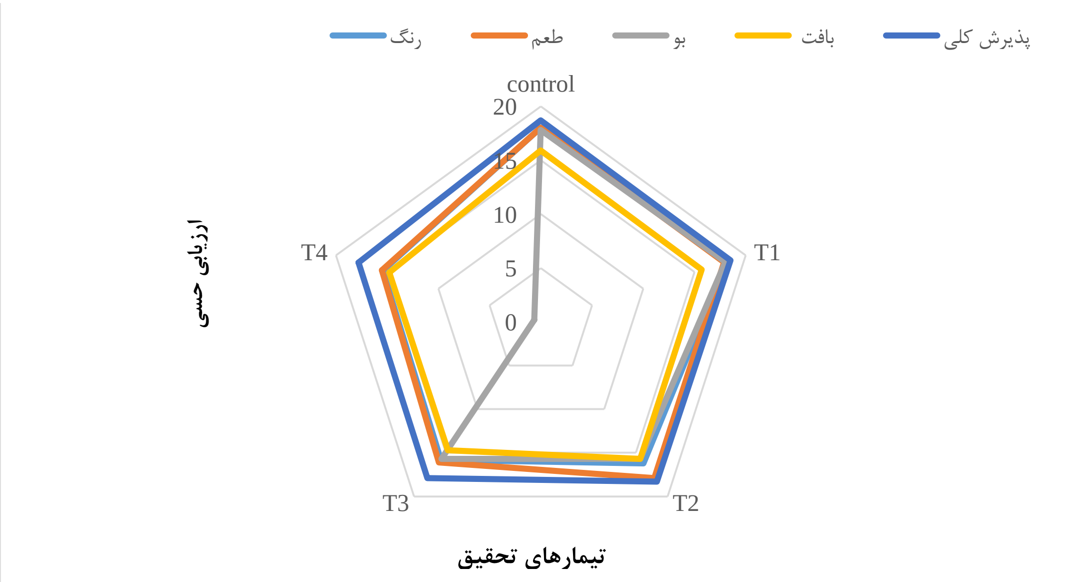
عامل درخشندگی (L*) در فرآورده‌های گوشتی به فاکتورهای از جمله غلظت، نوع و محتوی آب رنگدانه‌های موجود و خاصیت جذب رطوبت مواد حل شده توسط ماتریکس بستگی دارد (Al-Marazzeq *et al.*, 2015). نتایج حاصل از بررسی L* در تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد و نگهداری طی ۳۰ روز انجام آزمایش تاثیر مهمی بر این پارامتر نداشته است. Liu و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند افزودن رزماری و چوب ماهون به سوسیس مرغ طی ۱۴ روز تفاوتی در درخشندگی تیمارها گزارش نکردند. در حالیکه Al-Marazzeq و همکاران (۲۰۱۵) کاهش L* را با افزایش پودر چغندر قند در سوسیس گوساله را نشان دادند.

بیشترین و کمترین اندیس زردی (b*) به‌ترتیب مربوط به تیمار T_1 و T_4 بود و در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. اختلاف در اندیس زردی مربوط به حضور رنگدانه‌هاست و ربطی به روند اکسیداسیون ندارد (Al-Marazzeq *et al.*, 2015)، که این علت می‌تواند در اثر رنگ ترکیب پودر کاهو و رازیانه مورد استفاده در این تحقیق ایجاد شده باشد. Ashley (۲۰۱۲) بیان کرد مدت زمان نگهداری تأثیری بر افزایش یا کاهش اندیس زردی ندارد. درحالیکه Tahmouzi و همکاران (۲۰۱۲) کاهش اندیس زردی را در فرانکفورتر و هات‌داگ‌های جایگزین شده با پودر آناتو و پاپریکا مشاهده کردند.

اختلاف رنگی اندازه‌گیری شده اگر بیش از ۲ باشد به‌عنوان تغییرات کلی قابل دید در تیمارها در نظر گرفته می‌شود (Moarefian *et al.*, 2012) مطابق جدول ۵ فقط اختلاف در تیمار T_1 اختلاف رنگی قابل دید وجود نداشت در نتیجه در این تیمار نیتریت نقش کمتری در ایجاد رنگ داشته و بیشتر تأثیر آنتی‌باکتریایی داشته است.

ارزیابی حسی در تیمارها

در بررسی آزمون ارزیابی حسی، دامنه تغییرات برای صفت رنگ بین ۱۵/۴ تا ۱۸/۱ مشاهده گردید و همچنین مشخص گردید تیمار T_1 اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد ندارند و بالاترین امتیاز رنگ به تیمار T_1 با کمترین مقدار پودر رازیانه و کاهو تعلق گرفت. امتیاز طعم و بو، بافت و پذیرش کلی نشان داد تا افزودن ۶۰ ppm پودر کاهو و رازیانه تأثیری بر طعم و بوی تیمارها نداشت که می‌تواند ناشی از طعم و مزه رازیانه به‌عنوان یک ادویه مناسب در فرآورده‌های گوشتی باشد. با افزایش پودر کاهو و رازیانه کاهش امتیاز عطر و بو در تیمارها توسط ارزیاب‌ها مشاهده شد. به‌طور مجموع بر اساس نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های حسی مشخص گردید که تیمار T_1 بیشترین مشابهت را نسبت به تیمار شاهد داشت.



شکل ۷- بررسی ارزیابی حسی نمونه‌های سوسیس حاوی پودر کاهو و رازیانه

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی تیمار T_4 با ۱۲۰ ppm ترکیب پودر کاهو و رازیانه و بدون نیتریت افزوده شده با میانگین عدد تیوباربیتوریک اسید ۲۴ mg Malone Aldehyde /Kg و شاخص عدد پراکسید با میانگین ۰/۵۹ me O_2/kg در مقایسه با نمونه شاهد با ۱۲۰ ppm نیتریت افزوده شده نتایج مطلوب‌تری را نشان داد. در خصوص کشت میکروبی در طی ۳۰ روز ، باکتری‌های کلیفرم، *کلستریدیوم پرفرنژنس*، کپک و مخمر رشد نداشتند که نشان‌دهنده شرایط مناسب تولید و کیفیت مواد مورد استفاده بود. در خصوص شمارش باکتری‌های کلی نمونه شاهد حاوی ۱۲۰ ppmنیتریت نسبت به سایر نمونه‌ها بهترین مقاومت نسبت به رشد باکتری‌ها نشان داد که با نتایج حاصل از اندازه‌گیری نیتریت باقی‌مانده مطابقت داشت. تیمار T_1 با میزان پذیرش کلی ۱۸/۵۰ در آزمون ارزیابی حسی، میانگین ۱۰/۱۱ در آزمون شاخص قرمزی، میانگین ۰/۶۹ در اندازه گیری عدد پراکسید، میانگین ۴۲/۵۶ در اندازه‌گیری عدد تیوباربیتوریک اسید، میانگین pH ۶/۴۳ و میانگین ۵۶/۴۸ در اندازه‌گیری میزان نیتریت باقی‌مانده، بیشترین شباهت را به نمونه شاهد داشت. با توجه به خصوصیات سلامتی‌بخش ترکیبات گیاهی مانند خصوصیات ضدسرطانی از یک طرف و نیز زیان‌های ناشی ازاستفاده از نگهدارنده‌های سنتزی (مانند نیتریت در فرآورده‌های گوشتی) برای سلامتی انسان از طرف دیگر، می‌توان جایگزینی بخشی از نیتریت (حداقل ۶۰ ppm) را گامی مؤثر در جهت بهبود ارزش غذایی فرآورده‌های گوشتی دانست.

منابع

Ahn, H.J., Kim, J.H., Jo, C., Lee, C.H. and Byun, M.W., 2002. Reduction of carcinogenic N-nitrosamines and residual nitrite in model system sausage by irradiation. *Journal of Food Science*, *67*(4), pp.1370-1373.

Alina, A.R., Mashitoh, A.S., Babji, A.S., Maznah, I., Syamsul, K.M.W. & Muhyiddin, Y., 2012. Oxidative stability of smoked chicken sausage substituted with red palm mid fraction during chilled storage. *World Applied Sciences Journal*, 17(TTHTA)): 62-66.

Al Marazzeq, K., Haddadin, M., Al Abdullah, B. and Angor, M., 2015. Effect of nitrite substitution with olive leaves extract on color and sensory properties of beef mortadella. *Journal of Agricultural Science*, 7(12:120.

Ashley, H. 2013. The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice compared with sodium nitrite on Listeria monocytogenes. MSc thesis, Iowa State University.

Borchert, L. and Cassens, R., 1998. Chemical hazardous analysis for sodium nitrite in meat curiny. *University of Wiscon Sin Journal*, 4:35-41.

Dineen, N.M., Kerry, J.P., Lynch, P.B., Buckley, D.J., Morrissey, P.A. and Arendt, E.K., 2000. Reduced nitrite levels and dietary α-tocopheryl acetate supplementation: Effects on the colour and oxidative stability of cooked hams. *Meat science*, 55(4):475-482.

Doolaege, E.H., Vossen, E., Raes, K., De Meulenaer, B., Verhé, R., Paelinck, H. & De Smet, S., 2012. Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver pâtés. *Meat science*, 90(4): 925-931.

Farahnaky, A., Abbasi, A., Jamalian, J. and Mesbahi, G., 2008. The use of tomato pulp powder as a thickening agent in the formulation of tomato ketchup. *Journal of texture studies*, 39(2):169-182.

Farkhondeh E, Hoseini E. Effects of Microencapsulated Nisin and Wastes of Tomato Processing, as an Alternative to Nitrite, on Some Chemical, Sensory and Microbial Characteristics of Sausage. 2017, *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 12 (1) :79-88.

Fernández, J., Pérez-Álvarez, J.A. & Fernández-López, J.A., 1997. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food chemistry*, 59(3):345-353.

Gassara, F., Kouassi, A.P., Brar, S.K. & Belkacemi, K., 2016. Green alternatives to nitrates and nitrites in meat-based products–a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(13):2133-2148.

Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G. & Georgakis, S.A., 2007. Effect of rosemary extract, chitosan and α-tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat science*, 76(1):172-181.

Hord, N.G. and Conley, M.N., 2017. Regulation of dietary nitrate and nitrite: balancing essential physiological roles with potential health risks. In Nitrite and Nitrate in Human Health and Disease (pp. 153-162). Humana Press, Cham.

Hosseinpour, S., Eskandari, M.H., Mesbahi, G.R., Shakar Forosh, Sh., & Frahnaki, E. 2013, Investigation of the use of natural cochineal and paprika dyes in order to create color in low-nitrite and nitrite-free Frankfurter sausages. *Iranian Journal of Food Science and Industry Research*, 9(3). 243-252.

Hwang, K.E., Kim, T.K., Kim, H.W., Seo, D.H., Kim, Y.B., Jeon, K.H. and Choi, Y.S., 2018. Effect of natural pre-converted nitrite sources on color development in raw and cooked pork sausage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *31*(8), p.1358.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 1994, Animal and vegetable oils and fats - test preparation. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 3226.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI).1996, Measurement of nitrate in meat products - reference method. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 923.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI).2002, Meat and its products - Determination of total ash content - Test method. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 744.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2003, Meat and meat products - Determination of moisture by reference method - Test method. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 745.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2005, Sausages - Features and Test Methods. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 2303.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2006, Food and feed microbiology - a comprehensive method for searching, identifying and counting Clostridium perfringens. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 2197.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2007, Vegetable and animal oils and fats - Measurement of thiobarbituric acid number directly. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 10494.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2008, Microbiology of food and feed - a comprehensive method for identifying and counting coliforms. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 1116.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI).,2009, Microbiology of food and animal feed - a comprehensive method for counting molds and yeasts - Part 1- Colony counting method in products with aqueous activity (Aw) greater than 0.95. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 10899.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). 2009, Vegetable and animal oils and fats - Measurement of peroxide number - Determination of end point by potentiometric method. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 19197.

Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI).,2014, Food Chain Microbiology - A Comprehensive Method for Counting Microorganisms - Part 1- Colony Count at 30 C Using Mixed Culture Method. Iranian National Standardization Organization (INSO). Standard No. 5272.

Jantawat, P., Runglerdkriangkrai, J., Thunpithayakul, C. and Sanguandeekul, R., 1993. Effects of initial nitrite level, heating and storage on residual nitrite and spoilage of canned ham roll. *Journal of food quality, 16*(1), pp.1-11.

Jin, S.K., Choi, J.S., Moon, S.S., Jeong, J.Y. & Kim, G.D., 2014. The assessment of red beet as a natural colorant, and evaluation of quality properties of emulsified pork sausage containing red beet powder during cold storage. *Korean journal for food science of animal resources*, 34(4):472.

Kayisoglu, S., Yilmaz, I., Demirci, M. & Yetim, H., 2003. Chemical composition and microbiological quality of the doner kebabs sold in Tekirdag market. *Food Control*, 14(7):469-474.

Khaleghi A, Rezaei K, Kasaei M, Khosravi-Darani K, Soleymani M. 2013, Evaluation of antioxidant properties of Berberis crataegina extract on fat oxidation of beef sausages during refrigerated storage. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology,* 7 (5):345-353.

Khodaee, S., & Khani, M.R. 2018, Effect of partial substitution of nitrite in sausage formulation by rosemary essential oil and red beet powder. *Journal of Food Industry Research.* 28 (1).79-88.

Liu, D.C., Tsau, R.T., Lin, Y.C., Jan, S.S. and Tan, F.J., 2009. Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food chemistry*, 117(1):106-113.

Maleki Kahaki, A., Bagheri, M. & Nateghi, L. 2017. Effects of nitrite substitution with celery extract on antioxidant, anti-microbial, sensory and color chicken cocktail sausages. *Journal of Food Science and Technology*, 14(69): 269-281.

Mansi, K., & Abushoffa, A. 2009. Hypolipidemic effect of seed extract of cheley (*Apiumgraveolens*) in rat. *Pharmachon Mag*. 23: 301-305.

Moarefian M, Barzegar M, Sattari M & Naghdi Badi H, 2012. Production of functional cooked sausage by Mentha piperita essential oil as a natural antioxidant and antimicrobial material. *Journal of Medicinal Plants* 11(41): 46-57.

Molanejad, M., Hedayatifard, M. & Golestan, L. 2016, increasing of shelf-life of heated ham using natural preservative chitosan as replacing of sodium nitrite. *Journal of Food Industry Research*. 26(1): 99-112.

Nielsen, S.S. 2010. Food Analysis. Food Science Texts Series.4thed.*SpringerScience*.UK.107-115.

Ozaki, M.M., Munekata, P.E., Jacinto-Valderrama, R.A., Efraim, P., Pateiro, M., Lorenzo, J.M. and Pollonio, M.A.R., 2020. Beetroot and radish powders as natural nitrite source for fermented dry sausages. *Meat Science*, p.108275.

Perea-Sanz, L., Montero, R., Belloch, C. & Flores, M., 2018. Nitrate reduction in the fermentation process of salt reduced dry sausages: Impact on microbial and physicochemical parameters and aroma profile. *International journal of food microbiology*, 282:84-91.

Perea-Sanz, L., Montero, R., Belloch, C. & Flores, M., 2019. Microbial changes and aroma profile of nitrate reduced dry sausages during vacuum storage. *Meat science,* 147:100-107.

Riyad, Y.M., Ismail, I.M.M. & Abdel-Aziz, M.E., 2018. Effect of vegetable powders as nitrite sources on the quality characteristics of cooked sausages. *Bioscience Research*, 15(3): 2693-2701.

Roby, M.H.H., Sarhan, M.A., Selim, K.A.H. & Khalel, K.I., 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Industrial crops and products*, 44:437-445.

Rojsuntornkitti, K., Jittrepotch, N., Kongbangkerd, T. & Kraboun, K., 2010. Substitution of nitrite by Chinese red broken rice powder in Thai traditional fermented pork sausage (Nham). *Int Food Res* J, 17:153-161.

Sallam, K.I., Ishioroshi, M. & Samejima, K., 2004. Antioxidant and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage. *LWT-Food Science and Technology*, 37(8): 849-855.

Seifi Nofaresti, S., Hosseini, S.A. & Khani, M.R. Investigation of the possibility of replacing nitrite and ascorbic acid in sausages using celery powder and fresh barberry juice during storage at 4 °C. *Journal of Food Microbiology*. 4(5): 85-97.

Shahidi, F., 1998. Flavor of meat, meat products and seafoods. Department of Biochemistry Memorial University of Newfoundland St John's, Newfoundland Canada. Second edition.

Sindelar, J.J., Cordray, J.C., Sebranek, J.G., Love, J.A. & Ahn, D.U., 2007. Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. *Journal of Food Science*, 72(6): 388-395.

Sriket, P. and Senphan, T., 2020. Effect of sweet basil *ocimum basilicum* l. leaves powder on qualities of pork emulsion sausage (Moo Yor). RMUTP research journal, 12(1): 77-91.

Sucu, C. & Turp, G.Y., 2018. The investigation of the use of beetroot powder in Turkish fermented beef sausage (sucuk) as nitrite alternative. *Meat science*, 140:158-166.

Tahmouzi, S., Razavi, S.H., Safari, M. & Emam-Djomeh, Z., 2012. Influence of beet sugar, calcium lactate, and staphylococcus xylosus (with nitrate reductase activity) on the chemical, microbiological, and sensorial properties of Persian uncured frankfurters. *Journal of food science*, 77(10): 565-571.

Vossen, E., Utrera, M., De Smet, S., Morcuende, D. & Estévez, M., 2012. Dog rose (*Rosa canina* L.) as a functional ingredient in porcine frankfurters without added sodium ascorbate and sodium nitrite. Meat Science, 92(4):451-457.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 5, Dec- Jan 2021, p. 889-903

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۵، آذر- دی ۱۴۰۰، ص. ۹۰۳-۸۸۹

Effects of lettuce (*sativa Lactuca)* and (*Foeniculum vulgare*) powder as a natural source of nitrate on the physical, chemical and microbiological properties and sensory evaluation of vacuum packed sausage

Z. Yousofi Mojir[1], A. Rahman[2*], M. Otadi[3]

Received: 2020.01.23
Accepted: 2020.11.11

Introduction: Due to the risks of using synthetic preservatives such as nitrite and its salts in meat products, there have been some efforts to reduce these synthetic preservatives in food. This study aimed to investigate the replacement of part of nitrite in 55% sausage formulation based on the conventional formula of a manufacturer.

Materials and Methods: For this purpose, Samples were produced with 120 ppm nitrite and a combination of lettuce and *Foeniculum vulgare* powder in four formulas including T1 (90 ppm nitrite+ 30 ppm lettuce and fennel powder), T2 (60 ppm nitrite+ 60 ppm lettuce and fennel powder), T3 (30 ppm nitrite+ 90 ppm lettuce and fennel powder) and T4 (120 ppm lettuce and fennel powder) and a control sample with 120 ppm nitrite (without lettuce and fennel powder). Physicochemical sensory, and microbial properties were investigated during 30 days of refrigerated storage.

Results and Discussion: The lowest pH (2.75%) did observe in T1 treatment on the 30th day of the experiment ($p<0.05$). The lowest moisture content (56.52%) and ash (2.43%) related to the control treatment on the 30th day of the experiment ($p<0.05$). Application of 30, 60, 90, and 120 ppm levels of lettuce powder and fennel in the treatments showed a decrease of 17, 18, 16, and 24% in the nitrate content of the samples, respectively ($p<0.05$). The highest and lowest peroxide value was 1.15 meq O_2/Kg for the control sample on the 30th day and 0.3 meq O_2/Kg for the T4 sample on the first day of the experiment, respectively. Regarding thiobarbituric acid index, the highest and lowest values were for the control sample with 24 mg MaloneAldehyde/Kg on the twentieth day and 15.76 mg MaloneAldehyde/Kg for the T4 sample on the 30th day of the experiment, respectively ($p<0.05$). The bacterial growth rate is lower in treatments containing combination lettuce, Foeniculum vulgare powder, and nitrite but in general, an increasing trend in microbial load observed in all treatments during 30 days of storage ($p<0.05$), While *Clostridium perfringens*, *coliform*, mold, and yeast did not grow on the treatments for 30 days ($P> 0.05$). In the sensory evaluation of treatments, the lowest a * observed in T4 treatment. The highest and lowest b* related to T1 and T4 treatments, respectively, While the combination lettuce and Foeniculum vulgare powder did not show any effect on the L*. The results of the sensory evaluation showed that the addition of lettuce and Foeniculum vulgare powder up to 60 ppm had no effect on the taste and smell of the treatments and showed a decrease in the aroma score in the treatments with increasing combination powder. Finally, the results of this study showed the possibility of successful replacement of some nitrite (at least 60 ppm) with a combination of lettuce and fennel powder.

Keywords: Lettuce Powder, *Foeniculum vulgare* powder, Sausage, Nitrite

1 and 2. MSc Student and Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Associated Professor, Department of chemical engineering, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, Iran.
(Corresponding Author E-mail: alireza_rahman@yahoo.com)